

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie



Voltametrické stanovení 5-nitrochinolinu na
uhlíkové filmové elektrodě
(Voltammetric Determination of 5-nitroquinoline at
Carbon Film Electrode)

Bakalářská práce
studijního oboru Chemie životního prostředí

Tato bakalářská práce byla vypracována na katedře analytické chemie PřF UK v Praze s finanční podporou MŠMT. Práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857 a LC 06035.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele Prof. RNDr. Jiřího Barka CSc. a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 25. května 2009.

.....

Předmětová hesla: analytická chemie

elektrochemie

nitrované heterocyklické polyaromatické uhlovodíky

voltametrie

Klíčová slova:

5 – nitrochinolin

diferenční pulsní voltametrie

DC voltametrie

uhlíková filmová elektroda

Ráda bych poděkovala svému školiteli Prof. RNDr. Jiřímu Barkovi CSc. a současně i konsultantovi Mgr. Ivanu Jiránkovi a všem ostatním členům katedry analytické chemie za odborné vedení, všestrannou pomoc a cenné rady v průběhu mé práce.

Děkuji svým rodičům a přátelům za trpělivost a podporu, kterou mi poskytovali během studia.

1 ÚVOD	7
1.1 Cíl práce	8
1.2 Studovaná látka	9
1.3 Vlastnosti 5-nitrochinolinu a chinolinu	10
1.4 Stanovení 5-nitrochinolinu	10
1.5 Metody měření	11
1.5.1 DC voltametrie	11
1.5.2 Diferenční pulsní voltametrie	11
1.6 Uhlíková filmová elektroda	12
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	13
2.1 Reagencie	13
2.2 Aparatura	13
2.2.1 Pracovní elektroda	14
2.3 Pracovní postupy	14
2.4 Stálost zásobního roztoku 5-nitrochinolinu	15
3 VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 5-NITROCHINOLINU NA UHLÍKOVÉ FILMOVÉ ELEKTRODĚ	17
3.1 Regenerace	17
3.2 Opakovatelnost měření a obnovení filmu	20
3.3 DC voltametrie 5-nitrochinolinu	23
3.3.1 Vliv pH	23
3.3.2 Koncentrační závislosti	25
3.4 Diferenční pulsní voltametrie 5-nitrochinolinu	30
3.4.1 Vliv pH	30
3.4.2 Koncentrační závislosti	32
4 ZÁVĚR A DISKUZE	37
5 LITERATURA	39

Seznam zkratek a použitých symbolů

ε	molární absorpční koeficient
λ	vlnová délka
λ_{max}	vlnová délka absorpčního maxima
5-NQ	5-nitrochinolin
A	absorbance
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
c	molární koncentrace
C. A. S.	Chemical Abstract Services
DCV	DC voltametrie (direct current voltammetry)
DPV	diferenční pulsní voltametrie
E	potenciál
E_{reg}	potenciál regenerace
E_{fin}	konečný potenciál regenerace
E_{in}	počáteční potenciál regenerace
E_p	potenciál píku
I	proud
I_p	proud píku
L_Q	mez stanovitelnosti
CFE	uhlíková filmová elektroda
AgSAE	stříbrná pevná amalgámová elektroda
M_r	relativní molekulová hmotnost
NPAH	nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky
PAH	polycyklické aromatické uhlovodíky
RSD	relativní směrodatná odchylka
s	směrodatná odchylka
t	čas
t_{reg}	čas regenerace
UV/VIS	ultra fialová/viditelná oblast (ultra violet/visible)
V	objem

1 ÚVOD

Průmysl v Evropě se v posledních desetiletích značně rozvíjí a s jeho rozvojem přichází i zvyšující se znečišťování životního prostředí toxickými látkami [1]. Mezi látky podezřelé z karcinogenních a mutagenních účinků patří i některé heterocyklické polyaromatické sloučeniny, jako například chinolin a jeho nitroderiváty [2-4]. Tyto látky jsou chemicky i strukturně velmi blízké polycyklickým aromatickým uhlovodíkům (PAH), skupině látek, která byla vůbec první, u níž byla prokázána souvislost mezi profesionální expozicí a zvýšeným výskytem rakoviny [1].

PAH obdobně jako některé heterocyklické sloučeniny jsou v životním prostředí téměř všudypřítomné a jsou doprovázeny svými nitroderiváty, které ve srovnání se svými mateřskými sloučeninami bývají silně mutagenní a řada z nich má i karcinogenní účinky [5].

Bylo zjištěno, že PAH jsou mutagenní až po předchozí metabolické aktivaci, zatímco nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky (NPAH) patří mezi přímé mutageny. Genotoxicita PAH závisí jak na struktuře PAH, tak i na počtu a poloze přítomných substitučních skupin [6]. Heterocyklické sloučeniny jsou méně prostudovány než PAH, ale jejich chování je analogické a způsob vzniku i výskyt obou skupin látek je podobný. Vznikají zpravidla při spalování organické hmoty (např. spalovací motory - hl. dieslové, ve spalovnách apod.), s čímž souvisí i jejich výskyt v životním prostředí (emise, dehet, apod.) [7]. NPAH se v ovzduší běžně vyskytují v koncentracích 10^{-2} - 10^2 ng.m⁻³, setrvávají v ovzduší relativně dlouho a sorbují se na respirabilní prachové částice [5].

Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny v Lyonu (IARC) se zabývá studiem účinků těchto látek na okolní prostředí a vypracováváním metod pro likvidaci všech skupin chemických karcinogenů [8].

Předkládaná bakalářská práce vznikla v rámci rozsáhlého projektu, který se zabývá stanovením různých genotoxických látek pomocí voltametrických a polarografických metod, a který je řešen Laboratoří elektrochemie životního prostředí na Katedře analytické chemie, Univerzitě Karlově v Praze.

1.1 Cíl práce

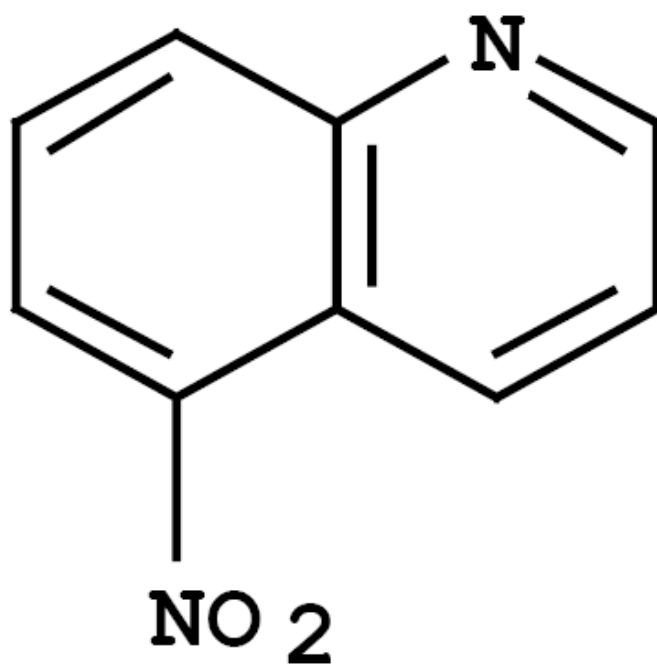
Cílem této práce bylo nalézt optimální podmínky pro stanovení co nejnižší koncentrace 5-nitrochinolinu (5-NQ) pomocí moderních voltametrických metod. Ke stanovení byly zvoleny metody, diferenční pulsní voltametrie (DPV) a DC voltametrie (DCV). Jako měrná elektroda byla použita uhlíková filmová elektroda (CFE).

Tato práce volně navazuje na diplomovou práci Mgr. Ivana Jiráňka (Polarografické a voltametrické stanovení 5-nitrochinolinu) [9] a bakalářskou práci Bc. Zuzany Králové (Využití stříbrné tuhé amalgámové elektrody k stanovení 5-nitrochinolinu) [10].

1.2 Studovaná látka

5 - nitrochinolin

strukturní vzorec:



CAS name: 5 - nitroquinoline

CAS registry number: 607 - 34 - 1

Sumární vzorec: C₉ H₆ N₂ O₂

M_R : 174,16

1.3 Vlastnosti 5-nitrochinolinu a chinolinu

5-NQ je žlutá krystalická látka, dobře rozpustná v organických rozpouštědlech, ale i ve vodě. Za normálních podmínek je stabilní. Teplota tání je v rozmezí 71-73 °C [8]. Skupina chinolinů je široce využívána jako základní směs k výrobě drog, fungicidů, biocidů, alkaloidů a barviv. Mají antiseptické a antipyretické účinky. Chinoliny jsou také užívány jako katalyzátory, látky zabraňující korozi a jako příměs do roztoků pro pryskyřice a terpeny [11]. Chinolin má chemické vlastnosti podobné pyridinu a strukturně je do jisté míry podobný i naftalenu, který se řadí mezi PAH. Reakcí atomu dusíku chinolin tvoří, stejně jako pyridin, kvartérní amoniové soli s alkylhalogenidy či dialkylsulfáty [12]. Chinolin je v organismu metabolizován na chinolin-1-oxid za katalýzy cytochromu P-450 a monooxidázy. Po aktivaci enzymy může působit jako hepatokarcinogen [13]. Studium chinolinu při působení na mořské řasy se zjistilo, že chinolin inhibuje jejich fotosyntézu [14]. 5-NQ se řadí mezi mutagenní látky [11], byl izolován z uhelného dehtu, poprvé F.Rudgem v roce 1834 [10]. 5-NQ byl například studován také jako možný lék proti rakovině [15-16].

1.4 Stanovení 5-nitrochinolinu

Elektrochemicky byl 5-NQ stanoven v rámci studie Tachibany, Kawazoe a jejich spolupracovníků, kteří se zabývali polarografií nitrochinolinů a jejich derivátů [3]. Byly proměřeny redukční půlvlnové potenciály u 35 různých nitrochinolinů. Studium mechanismu redukce nitrochinolinů a jejich derivátů se zjistilo, že první dobře definovaná vlna s výměnou 4 elektronů je pozorovatelná od 0,1 V až k 0,5 V a odpovídá redukci nitroskupiny na hydroxylaminovou skupinu u všech měřených nitrochinolinů. Další dvě vlny, spojené s další redukcí na aminoskupinu a deoxidací N-oxidové skupiny (u derivátů s N-oxid skupinou) jsou výrazně vzdáleny od první a dochází u nich k výměně 2 elektronů u každé vlny. Redukční potenciály jsou silně závislé na pH [3]. Chinolinový skelet je elektrochemicky redukovatelný, dochází u něj k redukci na dihydro a následně na tetrahydrochinolin ve dvou dvouelektronových vlnách [17]. V rámci výše uvedené studie byl u 5-NQ polarograficky studován jeho půlvlnový potenciál redukce nitro skupiny na hydroxylaminovou skupinu ve vodném prostředí, který při pH 3,78 byl -0,161 V, při pH 6,98 byl -0,306 V a při pH 9,85 byl -0,442 V [3].

V rámci separačních a spektrálních metod byl 5-NQ detegován, spolu se skupinou nitrovaných polyaromatických uhlovodíků, pomocí HPLC v mobilní fázi acetonitril-voda na reverzní fázi. Porovnávány byly tři druhy detekce, a to diodové pole (UV/VIS), fluorescenční a chemiluminescenční. Při použití diodového pole bylo dosaženo detekčních limitů mezi 2 až 12 ng vstříknuté látky. Fluorescenční a chemiluminescenční detekce vykazovala větší citlivost, bylo dosaženo detekcí mezi 10 až 15 pg pro monosubstituované nitrosloučeniny [18]. Pomocí plynové chromatografie byly studovány retenční charakteristiky 56 nitrovaných aromatických sloučenin včetně 5-NQ s použitím křemenné kapiláry [19]. Bylo provedeno stanovení různých nitrovaných polyaromatických sloučenin včetně 5-nitrochinolinu plynovou chromatografií na křemenné kapiláře s termoionizačním detektorem selektivním na N a P v extraktech ze splodin dieslových motorů [7]. Vzorky pro stanovení byly děleny HPLC. Pokusně bylo stanoveno 45 různých látek. Dosažené detekční limity se pohybují v rozmezí 0,2 až 0,5 ppm [7]. Směs nitrovaných polyaromatických sloučenin, včetně 5-NQ byla dělena pomocí tenkovrstvé chromatografie na polyethylen-tereftalátovém filmu [20]. Byla vyvinuta metoda extrakce na tuhou fázi na kolonkách plněných silikagelem s vázanou kyanopropylovou skupinou, díky níž lze rozdělovat miligramová množství organických polárních látek, včetně 5-NQ [21].

1.5 Metody měření

1.5.1 DC voltametrie

Při DC voltametii se potenciál vkládaný na pracovní elektrodu lineárně s časem mění. Rychlost změny potenciálu je dostatečně malá ve srovnání s rychlostí ustavování rovnováhy elektrody, takže lze metodu považovat za stacionární při konstantním potenciálu [22]. Je registrován proud měřený při vloženém potenciálu. Metoda je dobře popsána např. v monografiích [23-24].

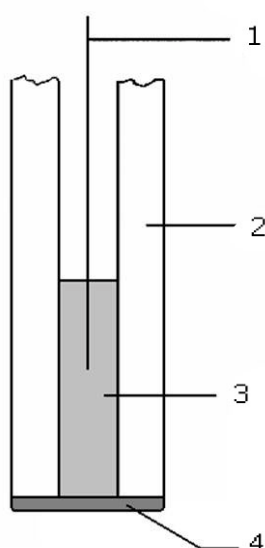
1.5.2 Diferenční pulsní voltametrie

Při diferenční pulsní voltametii se na pracovní elektrodu vkládá potenciál, který je měněn lineárně s časem s průběžně periodicky vkládanými potenciálovými pulsy o amplitudě řádově desítek mV a době trvání desítek ms. Registruje se rozdíl proudů změřených těsně před vložením potenciálového pulsu a na jeho konci [25]. Metoda je dobře popsána např. v monografiích [23-24].

1.6 Uhlíková filmová elektroda

Jako uhlíková filmová elektroda je označován uhlíkový film nanesený na pevnou elektrodu (v tomto případě pevnou stříbrnou amalgámovou elektrodu AgSAE [26]) s níž je vodivě spojen. Pevná elektroda zde slouží pouze jako vodič a elektrochemické vlastnosti elektrody jsou dány uhlíkovým materiálem filmu. Uhlíkový film je vytvořen smočením povrchu pevné elektrody v uhlíkovém inkoustu, který obsahuje uhlíkový prášek, polymer a rozpouštědlo s relativně vysokou tenzí par. Inkoust, který se zachytí na povrchu elektrody po vyprchání rozpouštědla vytvoří film. Mezi výhody této elektrody patří přednosti použitého elektrodového materiálu (uhlíku): velké potenciálové okno v anodické i katodické oblasti (cca 3 V), vysoká citlivost a nízký šum měření. Velkou výhodou této elektrody je také rychlá a snadná obnovitelnost filmu, fakt, že elektroda je schopná po lehkém upravení podmínek vykazovat vlastnosti mikroelektrody a v neposlední řadě ekonomická nenáročnost a nízká zátěž pro životní prostředí [27]. Tato elektroda může totiž sloužit jako náhrada za sítotiskové elektrody na jedno použití.

Dosud byla uhlíková filmová elektroda (film obsahoval 90% uhlíku CR2) použita např. ke stanovení guaninu a adeninu založeném na jejich elektrochemické oxidaci. Vzhledem k úzkému anodickému oknu rtuťi nelze tyto látky stanovit na rtuťové či amalgámové elektrodě [28].



Obr.1.6

Uhlíková filmová elektroda: elektrický kontakt (1); skleněná kapilára (2); Ag amalgám (3); uhlíkový film (4)

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Reagencie

Zásobní roztok 5-NQ o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,01742 g čisté látky (99%, Aldrich Chem. Co.) ve 100 ml deionizované vody pomocí ultrazvukové lázně (15min.). Roztoky o nižších koncentracích pro měření kalibračních závislostí, byly připraveny přesným ředěním zásobního roztoku deionizovanou vodou. Veškeré roztoky byly uchovávány při laboratorní teplotě ve tmě, ve skleněných nádobách.

Použité chemikálie byly H_3BO_3 , CH_3COOH , H_3PO_4 , NaOH, KCl (vše v čistotě p.a., Lachema Brno). Brittonovy-Robinsonovy tlumivé roztoky o daném pH byly připravovány dle postupu v tabulkách [29], a to smísením $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH s roztokem obsahujícím H_3PO_4 , CH_3COOH a H_3BO_3 , všechny o koncentraci $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$.

Pro přípravu všech vodných roztoků byla používána deionizovaná voda (Millipore, Milli-Q plus systém, Millipore, USA).

2.2 Aparatura

Při voltametrických měřeních byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro 5.1., (EcoTrend Plus, Praha), který pracoval v operačním systému Windows XP (Microsoft Corp.).

Měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení. Jako měrná elektroda byla použita uhlíková filmová elektroda (viz. kap. 2.2.1), jako referentní elektroda byla použita argentchloridová elektroda typu RAE 113 (1 mol.l^{-1} KCl, Monokrystaly, Turnov) a jako pomocná elektroda byla použita platinová drátková elektroda (Monokrystaly, Turnov).

Při DPV byly na elektrodu vkládány pulsy o šířce 80 ms a modulační amplitudě -50 mV. Rychlost nárůstu potenciálu byla při obou technikách (DPV, DCV) 20 mV/s . Z měřených roztoků byl odstraňován kyslík probubláváním dusíkem po dobu 5 minut. Hodnota pH byla měřena digitálním pH metrem Jenway (Jenway LTD, Essex, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou.

Spektrofotometrická měření byla prováděna na spektrofotometru Agilent 8453 (Agilent Technologies, USA).

2.2.1 Pracovní elektroda

Pro studium chování 5-NQ byla použita uhlíková filmová elektroda tvořená uhlíkovým filmem pokrytou stříbrnou amalgámovou elektrodou (CF-AgSAE). Průměr aktivní plochy AgSAE (Ekotrend plus, Praha) č. 2-05-16 byl 0,413 mm. Film byl vytvořen smočením povrchu elektrody v uhlíkovém inkoustu. Po vytěkání rozpouštědla (1-2 min.) se na povrchu elektrody vytvořil film a elektroda byla připravena k použití. Uhlíkový inkoust použitý pro vytvoření filmu byl připraven smísením a rozpuštěním 0,09 g uhlíku CR2 a 0,01 g polystyrenu v 0,05 ml dichlorethanu. Inkoust byl zhomogenizován intenzivním mícháním po dobu 5-ti minut s použitím Vortex-Genie 2 (Scientific industries, inc., USA). Použité složení filmu bylo optimalizováno v předchozí práci [27].

Na elektrodu byla před každým měřením aplikována elektrochemická regenerace pro dosažení lepší opakovatelnosti měření. Elektrochemická regenerace byla uskutečněna vkládáním potenciálových pulsů E_{in} a E_{fin} , každý po dobu 0,05 s, 300 opakování. Při optimalizaci pH u DCV i DPV (kap.3.3.1 a kap.3.4.1) byla použita regenerace $E_{in} = -100$ a $E_{fin} = -900$. Po provedení optimalizace regenerací (viz. kap. 3.1) byl na elektrodu vkládán nulový potenciál po dobu 15 s. V případě pasivace filmu byl tento odstraněn mechanickým otřením a nahrazen novým.

2.3 Pracovní postupy

Při měřeních bylo do 10 ml odměrné baňky odpipetován 1ml roztoku 5-NQ o příslušné koncentraci a baňka byla doplněna po rysku BR puřem o příslušném pH. Takto připravený roztok byl po předchozím promíchání převeden do polarografické nádoby a následně zbaven přítomného kyslíku 5 minutovým probubláním dusíkem. Poté byl proveden záznam voltamogramu. Všechna měření byla provedena třikrát a za laboratorní teploty.

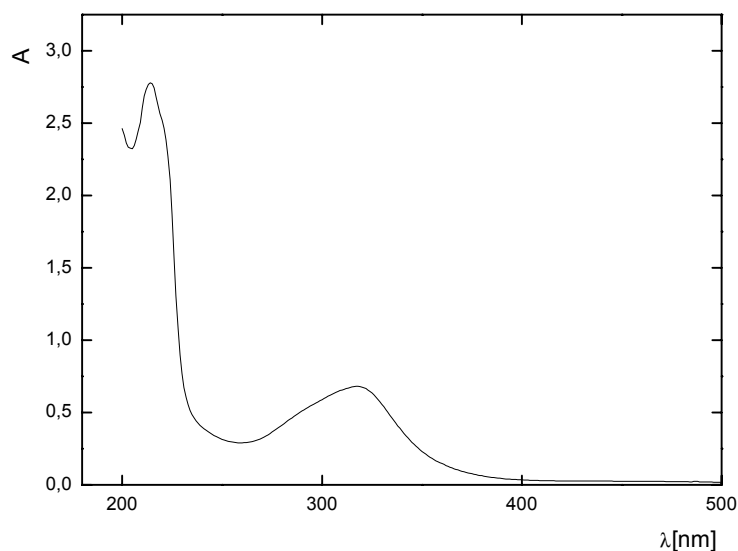
Výška píku (vlny) byla vyhodnocena způsobem, který je znázorněn na Obr.3.3.1 b) (DCV) a 3.4.1 b) (DPV). Statistické parametry kalibračních závislostí (směrnice, úsek a pod.) byly vypočítány s použitím statistického programu ADSTAT 2.0., (Trilobyte, Česká republika) [30]. Byla testována statistická významnost úseků kalibračních závislostí [31], statisticky nevýznamné úseky byly vynechány v tabulkách shrnujících parametry kalibračních závislostí. Mez stanovitelnosti byla vypočítána jako

koncentrace analytu odpovídající desetinásobku směrodatné odchylky deseti po sobě jdoucích stanovení 5-NQ při nejnižší měřitelné koncentraci [32].

2.4 Stálost zásobního roztoku 5-nitrochinolinu

Bylo proměřeno absorpční spektrum zásobního roztoku 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$) v oblasti vlnových délek 200-500 nm v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1 mm proti deionizované vodě. Absorpční spektrum vykazuje absorpční maximum při vlnové délce 318 nm (Obr.2.4). Druhé absorpční maximum při $\lambda_{\text{max}} = 220 \text{ nm}$ patrné na obr. 2.4 souvisí s použitým materiálem kyvety.

Stálost zásobního roztoku 5-NQ byla sledována při vlnové délce absorpčního maxima. Absorbance roztoku byla měřena v průběhu 5 měsíců. Během doby měření nedošlo k žádným statisticky významným změnám. Naměřené hodnoty absorbancí jsou shrnuty v tabulce 2.4.



Obr.2.4

Absorpční spektrum zásobního roztoku 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$). Měřeno proti deionizované vodě v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1mm.

Tab. 2.4

*Spektrofotometrické studium stálosti zásobního roztoku 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$)
v křemenných kyvetách o měřné tloušťce 1 mm při vlnové délce absorpčního
maxima $\lambda_{\text{max}} = 318 \text{ nm}$.*

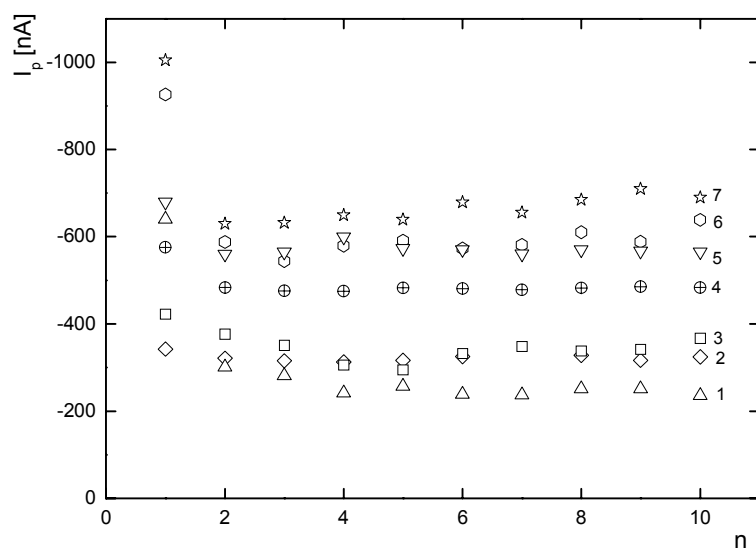
Dny	Absorbance	(%)
1	0,6793	100,0
2	0,6793	100,0
3	0,6793	100,0
7	0,6793	100,0
14	0,6793	100,0
150	0,6811	100,3

3 VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 5-NITROCHINOLINU NA UHLÍKOVÉ FILMOVÉ ELEKTRODĚ

3.1 Regenerace

Byla provedena DPV studie závislosti výšky píku stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) na počtu měření při použití různých regeneračních potenciálů v prostředí BR pufru o pH 11 (pH bylo zvoleno v rámci optimalizace DPV stanovení viz. kap. 3.4.1). Na elektrodu byly vkládány různé regenerační potenciály E_{in} a E_{fin} (viz. kap.2.2.1). Bylo též testováno měření bez regenerace a s vloženým nulovým potenciálem (tzn. $E_{in} = 0$, $E_{fin} = 0$). Pro každé testované podmínky bylo provedeno 10 měření. Cílem bylo nalézt takové podmínky, při kterých by bylo dosaženo co nejlepší opakovatelnosti měření. Regenerační potenciály byly vybírány systematicky v rámci potenciálového okna CFE. Vzhledem k tomu, že se jedná o stanovení na základě katodické redukce 5-NQ, bylo zaměřeno v katodické části potenciálového okna CFE. Jednotlivé dvojice potenciálů E_{in} a E_{fin} byly po otestování zaměněny, aby se zjistilo, zda záměna ovlivní regeneraci. Při testování v katodické části potenciálového okna byl jeden regenerační potenciál vždy před potenciálem redukce látky a druhý regenerační potenciál před nebo za potenciálem redukce látky. Výsledky měření jsou shrnuty v grafu 3.1 a tabulce 3.1. Z výsledků vyplývá, že nejlepší opakovatelnosti bylo dosaženo při vložení nulového potenciálu. První měření opakovaně vykazuje výraznější odchylku od průměru, proto byly při vyhodnocování (v tabulce 3.1) vyloučeny hodnoty získané při prvním měření. Optimalizované podmínky regenerace byly použity pro další měření.

Při optimalizaci regenerace byla jako kritéria výběru zvažována jak RSD, tak výška (resp. průměrná výška) píku. Cílem bylo získat podmínky, při kterých by byla výška píku největší a zároveň RSD nejmenší. Nejméně příznivé výsledky byly získané bez regenerace. Jako optimální regenerační podmínky byly zvoleny regenerační potenciály $E_{in} = 0$, $E_{fin} = 0$, které vykazovaly nejmenší RSD a relativně velkou výšku píku (-480 nA). Vzhledem k tomu, že zvýšení píku mezi regeneracemi $E_{in} = 0$, $E_{fin} = 0$ a $E_{in} = -1000$, $E_{fin} = -100$ (nejvyšší pík -663 nA) bylo relativně malé (37,5 %), byla jako prioritní kritérium uvažována RSD.



Obr. 3.1

Závislost proudu píku I_p stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) na počtu měření pro vybrané regenerační potenciály (E_{in} , E_{fin}): bez regenerace (1) ; -100, -1100 (2) ; -1100, -100 (3) ; 0, 0 (4) ; -100, +400 (5) ; -100, -1000 (6) ; -1000, -100 (7). Měřeno technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0.

Tab.3.1

Vliv různých regeneračních podmínek na opakované stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$).

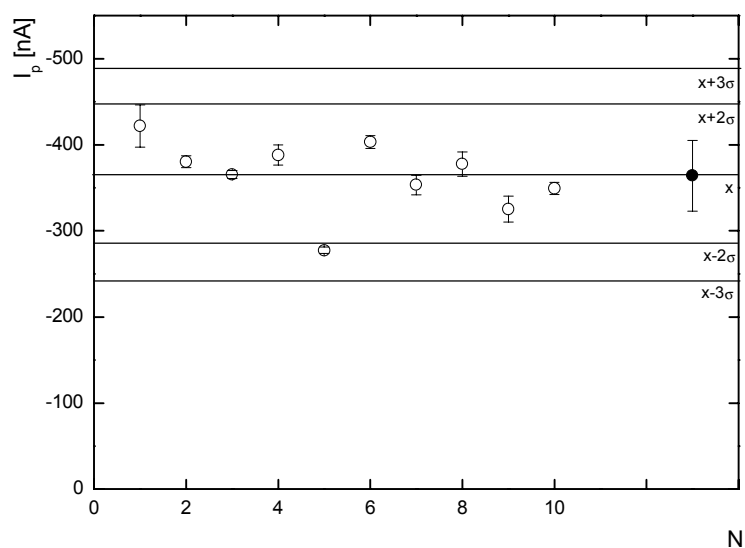
reg.potenciál (E_{in} , E_{fin}) [mV]	průměrný I_p [nA]	s [nA]	RSD [%]
-100, -800	-459,9	5,9	1,3
-800, -100	-557,5	10,2	1,8
-100, -600	-609,8	8,8	1,4
-600, -100	-647,2	8,7	1,3
-100, -400	-451,9	12,9	2,9
-400, -100	-497,6	11,6	2,3
-100, -200	-573,6	14,3	2,5
-200, -100	-610,5	11,8	1,9
-100, -1000	-588,5	25,9	4,4
-1000, -100	-663,3	28,5	4,3
-100, -1100	-322,5	9,0	2,8
-1100, -100	-339,5	26,3	7,8
-100, +400	-570,2	11,8	2,1
+400, -100	-579,4	10,1	1,7
-100, +800	-609,2	12,1	2,0
+800, -100	-629,1	14,3	2,3
<i>bez regenerace</i>	-255,2	22,2	8,7
0, 0	-480,9	3,5	0,7

3.2 Opakovatelnost měření a obnovení filmu

Při zvolených podmínkách regenerace byla testována opakovatelnost měření a opětovného obnovení filmu. Byla měřena série deseti po sobě jdoucích DPV stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE na deseti různých filmech stejného složení. Měření bylo prováděno v prostředí BR pufru o pH 11. Z jednotlivých sérií měření byly vypočítány průměry proudu píku a vyneseny do grafu v závislosti na pořadovém číslu filmu (N). Chybové úsečky u jednotlivých bodů představují směrodatnou odchylku deseti stanovení pro danou sérii. Na pravé straně grafu je znázorněn průměr \bar{x} vypočtený z průměrných hodnot I_p všech deseti sérií měření na jednotlivých filmech. V grafu jsou dále naznačeny regulační meze $\bar{x} \pm 2\sigma$ a $\bar{x} \pm 3\sigma$, kde σ odpovídá směrodatné odchylce mezi průměry I_p na jednotlivých filmech a je též zobrazena formou chybových úseček u průměru \bar{x} . Z regulačního diagramu (Obr. 3.2) vyplývá, že devět měření z deseti nepřekročilo první regulační mez (tzv. varovnou). Jedno z deseti měření překročilo varovnou mez, ale nepřekročilo druhou (tzv. kritickou) mez. Z tohoto důvodu byla opakovatelnost obnovení filmu považována za uspokojivou. Statistická charakteristika opakovatelnosti obnovení filmu je uvedena v tabulce 3.3.

Při příležitosti studie opakovatelnosti měření na různých filmech byla znovu vyhodnocena opakovatelnost měření vícenásobného stanovení (obdobně jako v kap. 3.1). Parametry získané na různých filmech byly mezi sebou porovnány, aby byla zjištěna statistická variabilita opakovatelnosti měření při obnovování filmu. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 3.2.

Lze konstatovat, že RSD nepřekročila 6 % a průměrně se pohybovala kolem 3 %.



Obr. 3.2

Závislost průměrů I_p 10-ti sérií DPV stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) měřených na různých filmech (N) na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0 .

Tab. 3.2

Opakovatelnost stanovení při vybraných regeneračních podmínkách ($E_{reg} = 0$) na různých filmech.

film	průměrný I_p [nA]	s [nA]	RSD [%]
1	-421,9	24,6	5,8
2	-380,4	6,8	1,8
3	-365,4	4,8	1,3
4	-388,1	11,6	3,0
5	-277,4	3,7	1,3
6	-403,3	7,4	1,8
7	-353,4	11,3	3,2
8	-377,4	14,2	3,8
9	-325,3	15,0	4,6
10	-349,5	7,1	2,0

Tab. 3.3

Opakovatelnost obnovení filmu

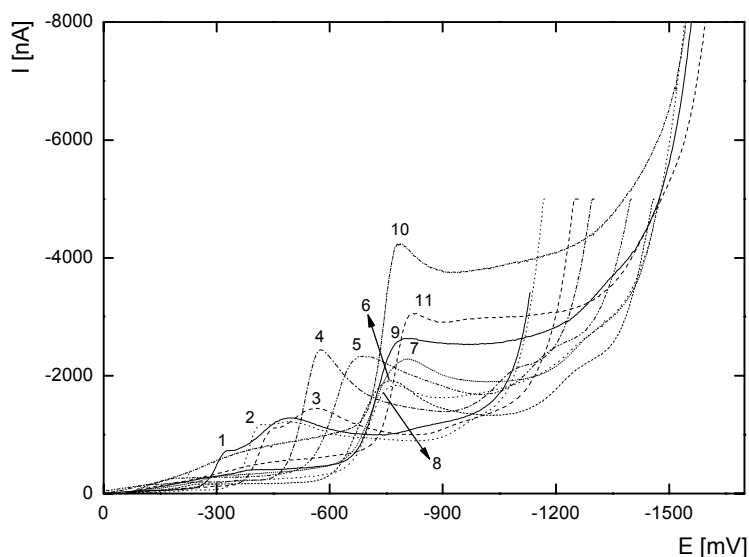
n	xprům [nA]	s [nA]	RSD [%]
10	-364,213	41,167	11,3

3.3 DC voltametrie 5-nitrochinolinu

3.3.1 Vliv pH

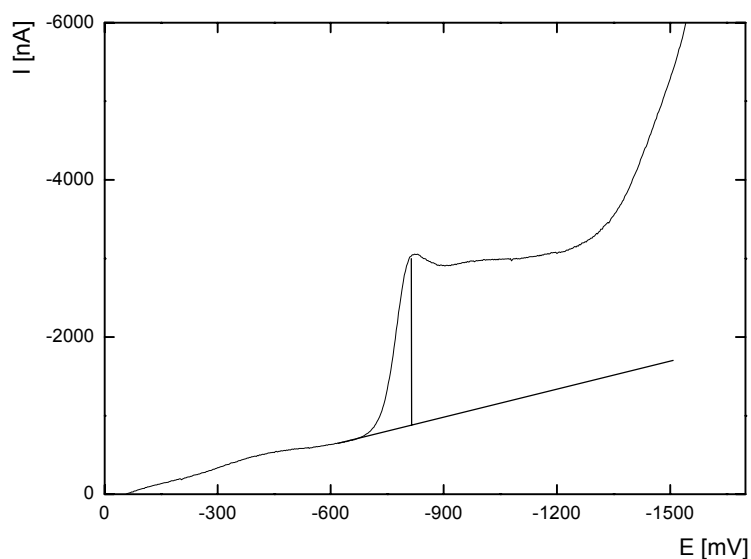
Vliv pH na elektrochemické chování 5-nitrochinolinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) při DCV na CFE byl sledován v prostředí BR pufru o pH 2,0 až 12,0. Zaznamenané voltametrické křivky znázorňuje Obr. 3.3.1 a). Látka poskytovala jeden pík v celém měřeném rozsahu pH. Předpokládaný mechanismus elektrochemického děje je čtyřelektronová redukce nitroskupiny na hydroxylaminovou skupinu [3]. Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 11, jelikož v tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyvinutou vlnu.

Změřené hodnoty proudu vlny I a potenciálu vlny E na pH znázorňuje tabulka 3.3.1. Graficky je závislost E na pH znázorněna na obr.3.3.2. Z obrázku je patrné, že potenciál vlny nabývá s rostoucím pH zápornějších hodnot. Zpracováním hodnot metodou lineární regrese byl získán vztah $E [\text{mV}] = -87,31 \text{ pH} - 137,75$ ($R = 0,9924$), v rozmezí pH 2-7 a vztah $E [\text{mV}] = -11,5 \text{ pH} - 667$ ($R = 0,6559$) a v rozmezí pH 8-12.



Obr. 3.3.1 a)

Voltamogramy 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1) ; 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6) ; 8,0 (7) ; 9,0 (8) ; 10,0 (9) ; 11,0 (10) ; 12,0 (11).



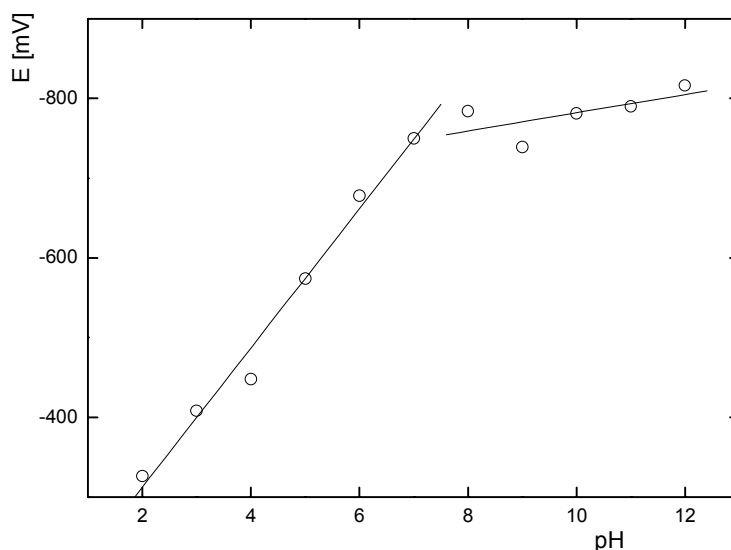
Obr. 3.3.1 b)

Grafické znázornění způsobu vyhodnocování výšek vln pro měření DCV.

Tab. 3.3.1

Vliv pH na proud a potenciál vlny stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru.

pH	E [mV]	I [nA]
2,0	-326	-480
3,0	-408	-915
4,0	-448	-777
5,0	-574	-1867
6,0	-678	-1504
7,0	-750	-1276
8,0	-784	-1242
9,0	-739	-1314
10,0	-781	-1438
11,0	-790	-2429
12,0	-816	-1758



Obr. 3.3.2

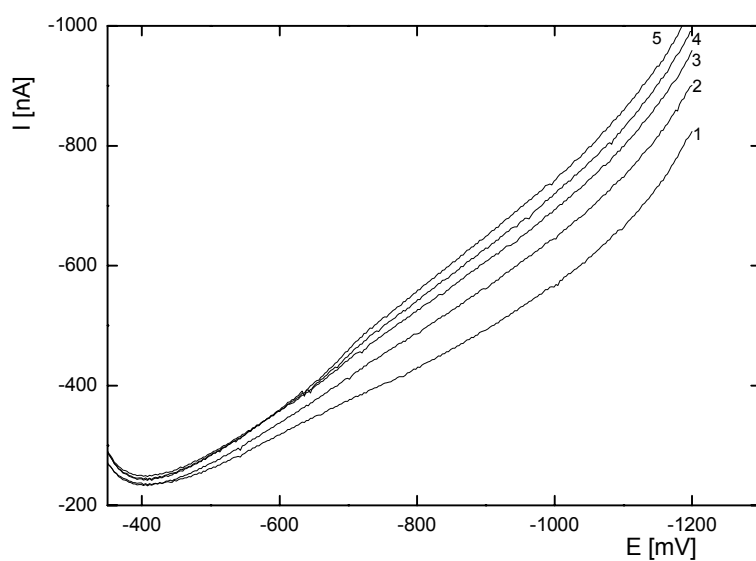
Vliv pH na potenciál vlny stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru.

3.3.2 Koncentrační závislosti

Koncentrační závislosti 5-NQ byly proměřeny metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11 v koncentračním rozmezí $(4-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$, $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ a $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Grafická znázornění voltamogramů pro příslušná koncentrační rozmezí jsou uvedena na Obr.3.3.3, Obr.3.3.5 a Obr.3.3.7.

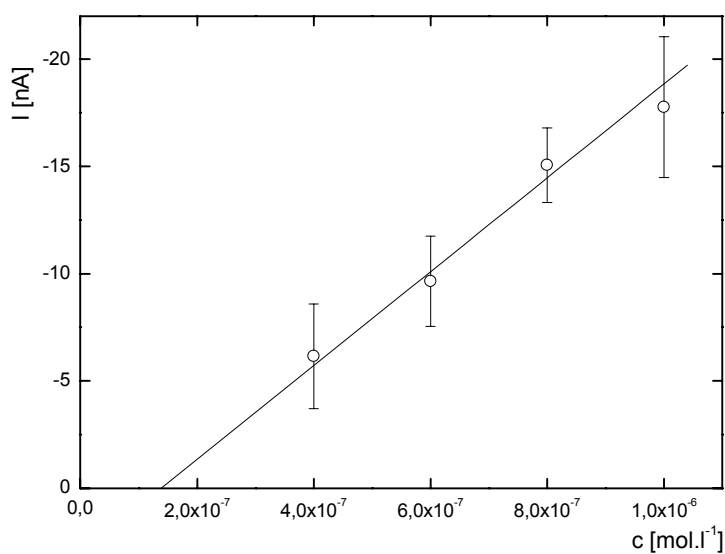
Kalibrační závislosti výšek vln na koncentraci 5-nitrochinolinu pro daná koncentrační rozmezí jsou uvedeny na Obr.3.3.4, Obr.3.3.6, Obr.3.3.8. Body v grafech odpovídají průměru výšky vln a chybové úsečky směrodatné odchylce stanovení pro danou koncentraci. Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v tab.3.3.2.

Měřené kalibrační závislosti byly lineární v koncentračním rozmezí $4 \cdot 10^{-7}$ až $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$, směrnice v daném koncentračním rozmezí zůstala relativně konstantní. Testované úseky nebyly statisticky významné na hladině významnosti 95%. Při vysokých koncentracích analytu ($8-10 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) opakovaně docházelo k odchylce od přímky, tj. signál byl vyšší než by odpovídalo lineární závislosti. RSD deseti po sobě jdoucích stanovení při nejnižší měřitelné koncentraci ($4 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$) byla 39,6 %. Pro nejvyšší koncentraci v lineárním dynamickém rozsahu ($6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) byla RSD 3,7 %.



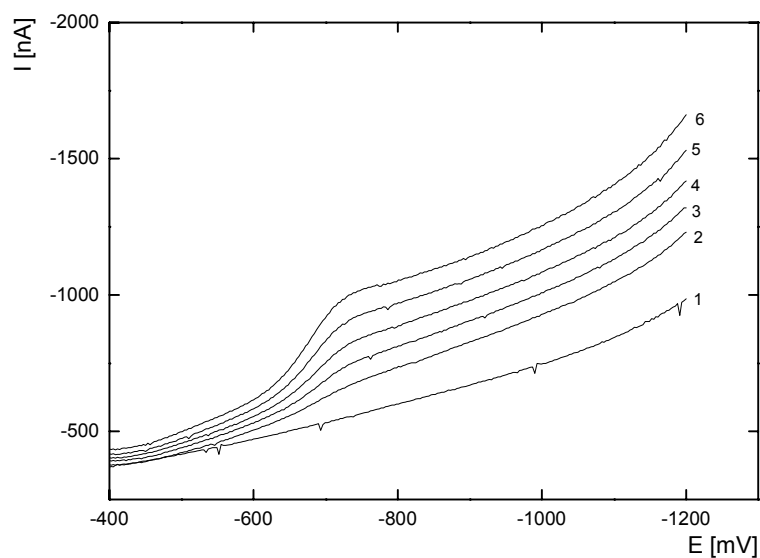
Obr. 3.3.3

Voltamogramy 5-NQ měřené technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0. Koncentrace 5-NQ: 0 (1) ; $4 \cdot 10^{-7}$ (2); $6 \cdot 10^{-7}$ (3); $8 \cdot 10^{-7}$ (4); $10 \cdot 10^{-7}$ (5) mol.l^{-1} .



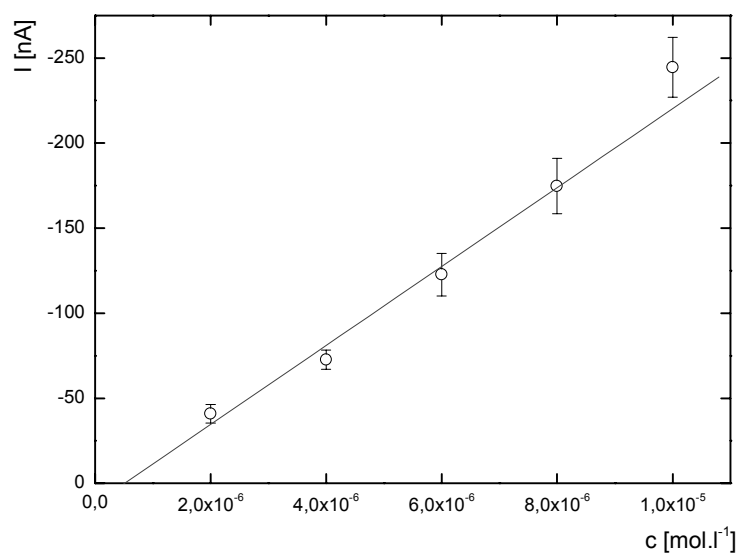
Obr. 3.3.4

Závislost proudu vlny I na koncentraci 5-NQ v rozmezí $(4-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. Měřeno technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0.



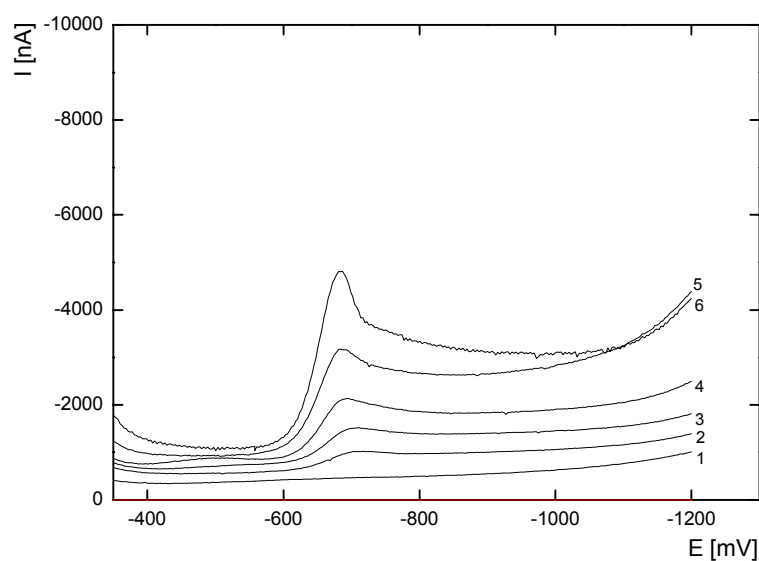
Obr. 3.3.5

Voltamogramy 5-NQ měřené technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0. Koncentrace 5-NQ: 0 (1) ; $2 \cdot 10^{-6}$ (2); $4 \cdot 10^{-6}$ (3); $6 \cdot 10^{-6}$ (4); $8 \cdot 10^{-6}$ (5); $10 \cdot 10^{-6}$ (6) mol.l^{-1} .



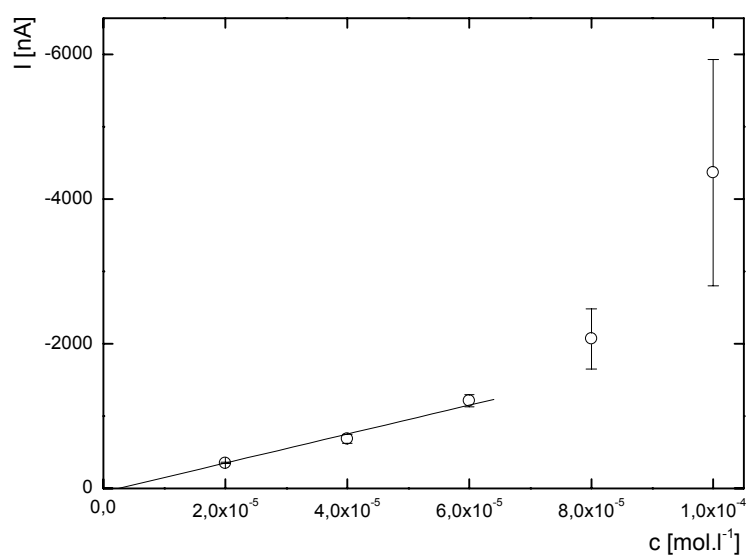
Obr. 3.3.6

Závislost proudu vlny I na koncentraci 5-NQ v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$. Měřeno technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0.



Obr. 3.3.7

Voltamogramy 5-NQ měřené technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0. Koncentrace 5-NQ: 0 (1) ; $2 \cdot 10^{-5}$ (2); $4 \cdot 10^{-5}$ (3); $6 \cdot 10^{-5}$ (4); $8 \cdot 10^{-5}$ (5); $10 \cdot 10^{-5}$ (6) mol.l^{-1} .



Obr. 3.3.8

Závislost proudu vlny I na koncentraci 5-NQ v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Měřeno technikou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0.

Tab. 3.3.2

Parametry kalibračních přímek stanovení 5-NQ metodou DCV na CFE.

Koncentrace [mol.l ⁻¹]	Úsek [nA]	Směrnice [nA.mol.l ⁻¹]	Korelační koeficient	L _q [mol.l ⁻¹]
(2-6).10 ⁻⁵	50,20	-2,00.10 ⁻⁷	0,9939	-----
(2-10).10 ⁻⁶	11,82	-2,32.10 ⁻⁷	0,9846	-----
(4-10).10 ⁻⁷	3,04	-2,18.10 ⁻⁷	0,9767	1.10 ⁻⁶

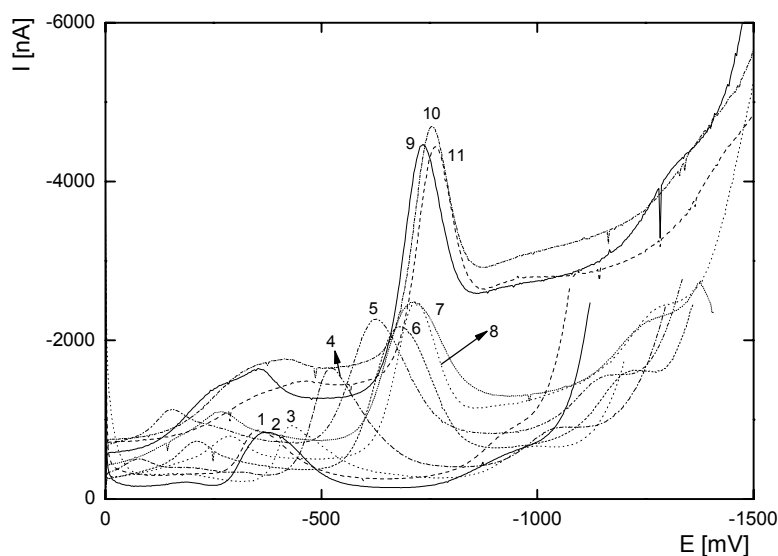
3.4 Diferenční pulsní voltametrie 5-nitrochinolinu

3.4.1 Vliv pH

Vliv pH na elektrochemické chování 5-nitrochinolinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) při DPV stanovení na CFE byl sledován v prostředí BR pufru o pH 2,0 až 12,0. Zaznamenané voltametrické křivky jsou znázorněny na Obr. 3.4.1 a). V celém měřeném rozsahu poskytovala látka dobře vyvinutý pík, který zřejmě souvisí s čtyřelektronovou redukcí nitroskupiny na hydroxylaminovou skupinu [3].

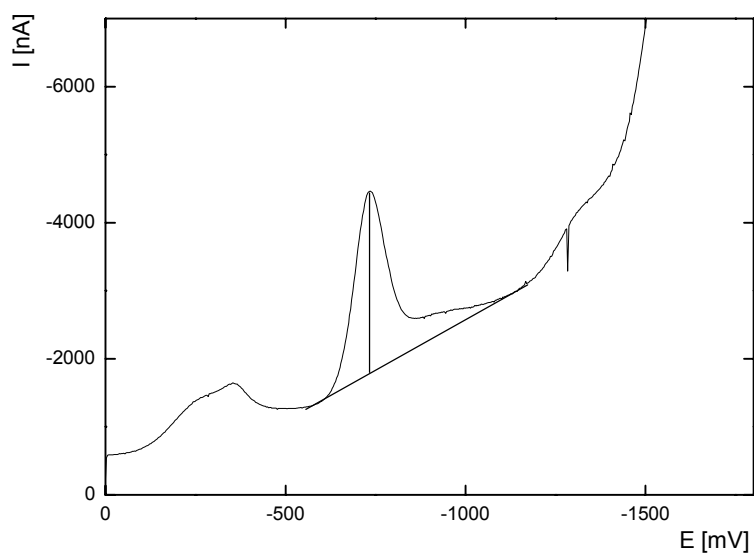
Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 11, jelikož v tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyvinutý pík.

Změřené hodnoty proudu píku I_p a potenciálu píku E_p v závislosti na pH znázorňuje tabulka 3.4.1. Graficky je závislost E_p na pH znázorněna na obr.3.4.2. Lze konstatovat, že s rostoucím pH se potenciál píku posunuje do zápornějších hodnot. Zpracováním hodnot závislosti E_p na pH metodou lineární regrese byl získán vztah $E_p [\text{mV}] = -44,45 \text{ pH} - 293,55$ ($R = -0,9836$) v rozmezí pH 2-7 a vztah $E_p [\text{mV}] = -16,1 \text{ pH} - 571$ ($R = -0,9228$) a v rozmezí pH 8-12.



Obr. 3.4.1 a)

Voltamogramy 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1) ; 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6) ; 8,0 (7) ; 9,0 (8) ; 10,0 (9) ; 11,0 (10) ; 12,0 (11).



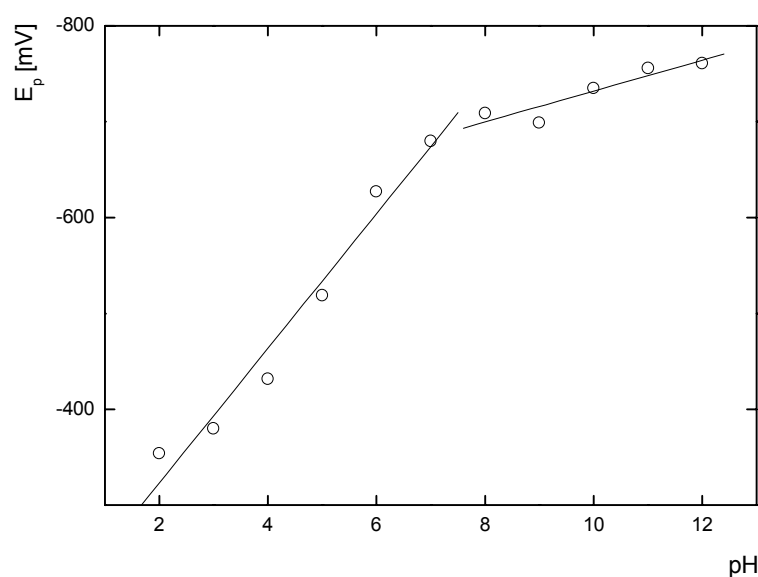
Obr. 3.4.1 b)

Grafické znázornění způsobu vyhodnocování výšek píků pro měření DPV.

Tab. 3.4.1

Vliv pH na proud a potenciál píku stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru.

pH	E_p [mV]	I_p [nA]
2,0	-354	-557
3,0	-380	-676
4,0	-432	-691
5,0	-519	-1310
6,0	-627	-1503
7,0	-680	-1669
8,0	-709	-1508
9,0	-699	-2001
10,0	-735	-2676
11,0	-756	-2519
12,0	-761	-2551



Obr. 3.4.2

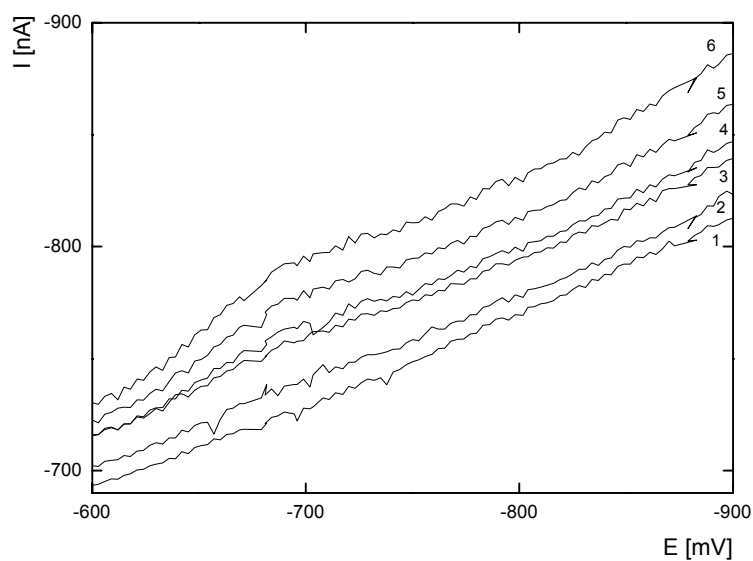
Vliv pH na potenciál píku stanovení 5-NQ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřeného technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru.

3.4.2 Koncentrační závislosti

Koncentrační závislosti 5-NQ byly proměřeny metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11 v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$, $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ a $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Grafická znázornění voltamogramů pro příslušná koncentrační rozmezí jsou uvedena na Obr.3.4.3, Obr.3.4.5 a Obr.3.4.7.

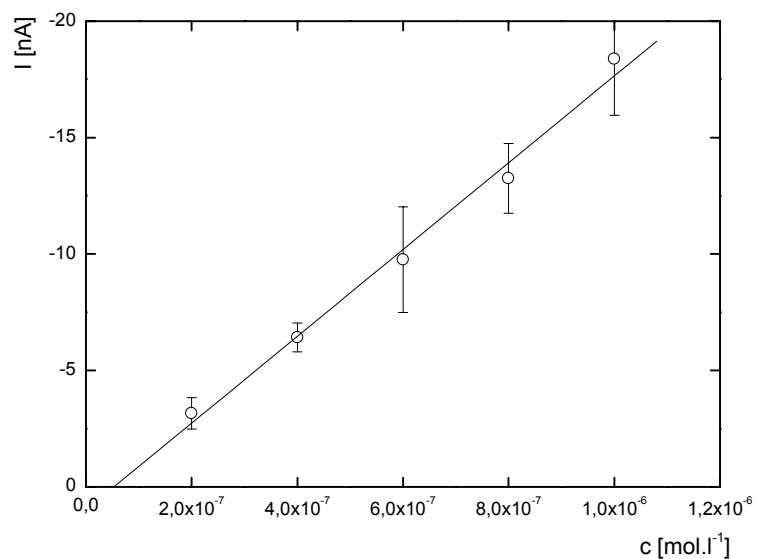
Kalibrační závislosti výšek píků na koncentraci 5-NQ pro daná koncentrační rozmezí jsou uvedeny na Obr.3.4.4, Obr.3.4.6 a Obr.3.4.8. Body v grafech odpovídají průměru výšky píku a chybové úsečky směrodatné odchylce stanovení pro danou koncentraci. Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v tab.3.4.2.

Měřené kalibrační závislosti byly lineární v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-7}$ až $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Směrnice zůstala v tomto koncentračním rozmezí relativně konstantní. Testované úseky nebyly statisticky významné na hladině významnosti 95%. Při vysokých koncentracích analytu ($8-10 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) opakovaně docházelo k odchylce od přímky, což se projevilo zvýšením signálu. RSD deseti po sobě jdoucích stanovení při nejnižší měřitelné koncentraci ($2 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$) byla 10,4 %. Pro nejvyšší koncentraci v lineárním dynamickém rozsahu ($c = 6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) byla RSD 2,3 %.



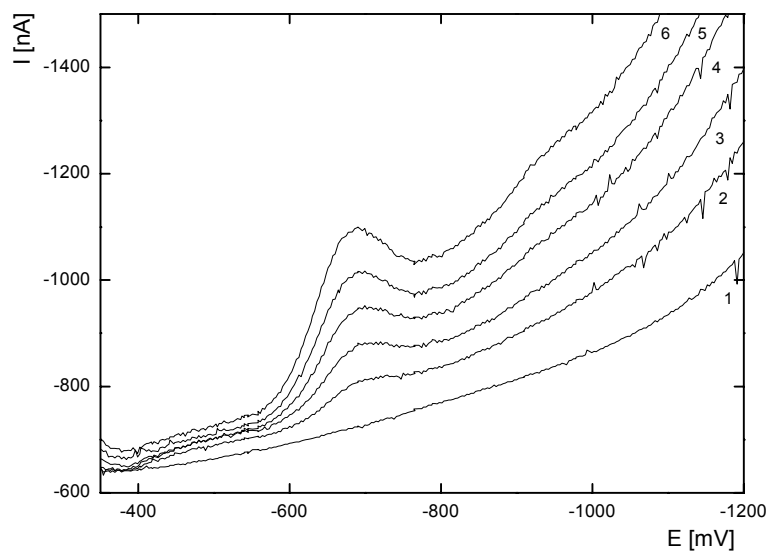
Obr. 3.4.3

Voltamogramy 5-NQ měřené technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0. Koncentrace 5-NQ: 0 (1) ; $2 \cdot 10^{-7}$ (2); $4 \cdot 10^{-7}$ (3); $6 \cdot 10^{-7}$ (4); $8 \cdot 10^{-7}$ (5); $10 \cdot 10^{-7}$ (6) mol.l^{-1} .



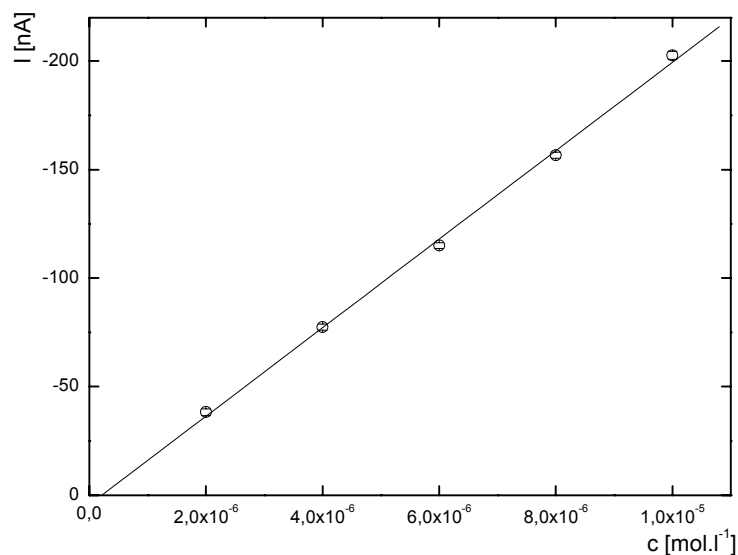
Obr. 3.4.4

Závislost proudu píku I_p na koncentraci 5-NQ v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. Měřeno technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0.



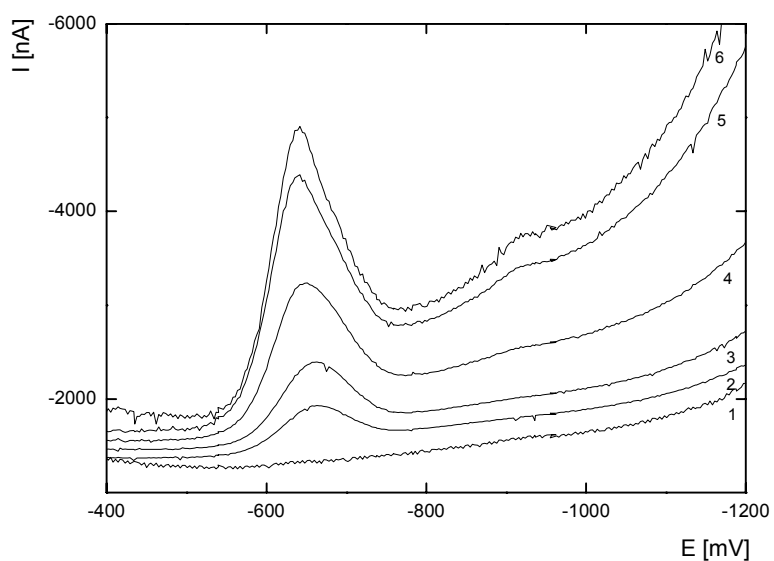
Obr. 3.4.5

Voltamogramy 5-NQ měřené technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0. Koncentrace 5-NQ: 0 (1) ; $2 \cdot 10^{-6}$ (2); $4 \cdot 10^{-6}$ (3); $6 \cdot 10^{-6}$ (4); $8 \cdot 10^{-6}$ (5); $10 \cdot 10^{-6}$ (6) mol.l^{-1} .



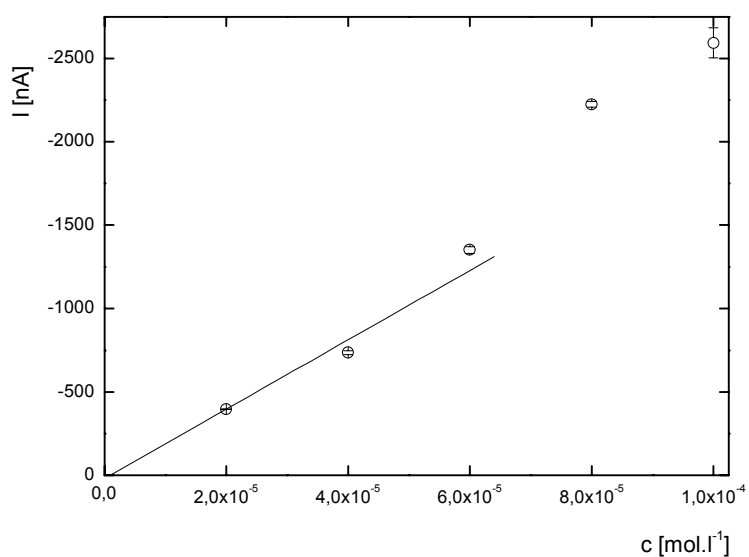
Obr. 3.4.6

Závislost proudu píky I_p na koncentraci 5-NQ v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$. Měřeno technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0.



Obr. 3.4.7

Voltamogramy 5-NQ měřené technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0. Koncentrace 5-NQ: 0 (1) ; $2 \cdot 10^{-5}$ (2); $4 \cdot 10^{-5}$ (3); $6 \cdot 10^{-5}$ (4); $8 \cdot 10^{-5}$ (5); $10 \cdot 10^{-5}$ (6) mol.l⁻¹.



Obr. 3.4.8

Závislost proudu píku I_p na koncentraci 5-NQ v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹. Měřeno technikou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 11,0.

Tab. 3.4.2

Parametry kalibračních přímek stanovení 5-NQ metodou DPV na CFE.

Koncentrace [mol.l ⁻¹]	Úsek [nA]	Směrnice [nA.mol ⁻¹ .l]	Korelační koeficient	L _Q [mol.l ⁻¹]
(2-6).10 ⁻⁵	19,53	-2,08.10 ⁻⁷	0,9862	-----
(2-10).10 ⁻⁶	4,38	-2,04.10 ⁻⁷	0,9992	-----
(2-10).10 ⁻⁷	0,99	-1,86.10 ⁻⁷	0,9952	4.10 ⁻⁷

4 ZÁVĚR A DISKUZE

V rámci předkládané bakalářské práce byly vypracovány DCV a DPV metody stanovení 5-NQ na CFE s mezemi stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ u DCV a $4 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ u DPV. Byla provedena optimalizace podmínek. Díky relativně dobré rozpustnosti 5-NQ bylo možné pracovat v čistě vodném prostředí. Látka poskytovala u obou metod 1 pík (vlnu) v celém rozsahu pH (2-12). Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru pH 11, kde látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyhodnotitelný signál.

Kalibrační závislosti byly proměřeny v koncentračním rozsahu $2 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ u DPV a $4 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ u DCV. Lineární dynamický rozsah u metod byl následující: DPV: $2 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$; DCV: $4 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Při vysokých koncentracích analytu ($8 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) docházelo u obou metod, z ne zcela jasného důvodu, opakovaně k nelineárnímu nárůstu proudu píku (vlny). Nárůst může souviset například s adsorpcí analytu na povrch elektrody.

Byla též provedena optimalizace regeneračních podmínek CFE v jejímž rámci byly zvoleny následující podmínky: $E_{\text{reg}} = 0$, $t_{\text{reg}} = 150 \text{ s}$.

Dále byla testována opakovatelnost stanovení při zvolených podmínkách sérií deseti stanovení na deseti různých filmech. Relativní směrodatná odchylka jednotlivých sérií deseti měření nepřesahovala 6 % a průměrně dosahovala hodnoty 3 %. Relativní směrodatná odchylka průměrů stanovení mezi jednotlivými filmy byla 11 %. Opakovatelnost stanovení mezi jednotlivými filmy byla považována za uspokojivou, neboť v rámci regulačního diagramu jen jedna průměrná hodnota stanovení z deseti překročila varovnou mez, ale nepřekročila mez kritickou.

Závěrem lze tedy konstatovat, že byla prokázána použitelnost CFE pro stanovení mikromolárních koncentrací 5-NQ na základě katodické redukce přítomné nitroskupiny.

Optimální parametry a dosažené meze stanovitelnosti jsou shrnuty v tabulkách 4.1 a 4.2.

Tab. 4.1

Dosažené meze stanovitelnosti a lineární dynamický rozsah

Metoda	Lineární dynamický rozsah [mol.l ⁻¹]	L _Q [mol.l ⁻¹]
DPV	2.10 ⁻⁷ - 6.10 ⁻⁵	4.10 ⁻⁷
DCV	4.10 ⁻⁷ - 6.10 ⁻⁵	1.10 ⁻⁶

Tab. 4.2

Optimalizované parametry a opakovatelnost

Parametr	Veličina	Hodnota [jednotky]
Prostředí	pH	11
Regenerace	E _{in} ; E _{fin}	0 ; 0 [mV]
Opakovatelnost stanovení	RSD	3 [%]
Opakovatelnost obnovení filmu	RSD	11 [%]

5 LITERATURA

1. Barek J., Mejstřík V., Švagrová I., Zima J.: Chem.Listy 88, 341 (1994).
2. Kawazoe Y., Tachibana M.: Chem. Pharm. Bull. 15, 1 (1967).
3. Tachibana M., Shoei S., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 15, 1112 (1967).
4. Kaiya T., Shirai N., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 34, 881 (1986).
5. <http://www.phyotosanitary.org/projekty/2004/vvf-09-04.pdf>, (staženo 20. dubna 2009).
6. Barek J.: Chem. Listy 80, 904 (1986).
7. Paputa-Peck M. C., Marano R. S., Schuetzle D., Riley T. L., Hampton C. V., Prater T. J., Skewes L. M., Jensen T. E., Ruehle P. H.: Anal. Chem. 55, 1946 (1983).
8. Anonymus: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 33: Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1: Chemical, Environmental and Experimental Data. IARC, Lyon 1983.
9. Jiránek I.: Diplomová práce, Karlova Univerzita, Praha 2006.
10. Králová Z.: Bakalářská práce, Karlova Univerzita, Praha 2007.
11. <http://chemicaland21.com/lifescience/phar/5-nitroquinoline.htm>, (staženo 23.10.2008).
12. Červinka O.: Chemie organických sloučenin, sv.2, SNTL, Praha 1987.
13. Tada M., Takahashi K., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 30, 3834 (1982).
14. Giddings J. M.: Bull. Environm. Contam. Toxicol. 23, 360 (1979).
15. Siim B. G., Denny W. A., Wilson W.R.: Int. J. Rad. Oncol., Biol., Phys. 29, 311 (1994).
16. Siim B. G., Atwell G. J., Wilson W.R.: British J. Canc. 70, 596 (1994).
17. Pech J.: Coll. Czech. Chem. Comm. 6, 126 (1934).
18. Liu T. Y., Robbat A., Jr.: J. Chromatogr. 539, 1 (1991).
19. White, C. M., Robbat A., Jr., Hoes R. M.: Chromatographia 17, 605 (1983).
20. Wang K. T., Wang I. S. Y., Lin A. L.: J. Chin. Chem. Soc. 13, 77 (1966).
21. Gundel L. A., Mahanama K. R. R., Daisey J. M.: J. Chromatogr. 629, 75 (1993).
22. Barek J., Opekar F., Štulík K.: Elektroanalytická chemie, Karolinum, Praha 2005.
23. Wang J.: Analytical Electrochemistry, 2nd Ed. VCH, Weinheim 2000.

24. Bard A. J., Faulkner L. R.: *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd Ed. John Wiley, New York 2001.
25. Opekar F., Jelínek I., Rychlovský P., Plzák Z.: *Základní analytická chemie*, Karolinum, Praha 2005.
26. Novotný L., Yosypchuk B.: *Chem. Listy* 94, 1118 (2000).
27. Yosypchuk B., Barek J., Fojta M.: *Electroanalysis* 18, 1126 (2006).
28. Seddom B. J., Osborne M. D., Lager G., Dryfe R. A. W., Loyall U., Schafer H., Girault H. H.: *Electrochim. Acta* 42, 1883 (1997).
29. Sýkora V., Zátka V.: *Příruční tabulky pro chemiky*, SNTL, Praha 1967.
30. Meloun M., Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat na osobním počítači*, FINISH, Pardubice 1992.
31. Vlášil F.: *Příklady z chemické a instrumentální analýzy*, Informatorium, Praha 1991.
32. Eckschlager K.: *Chemometrie*, Karolinum, Praha 1991.